







**Isotonic lipid emulsions containing omega-3 fatty acids and the use thereof**

**Patent number:** EP0311091  
**Publication date:** 1989-04-12  
**Inventor:** NEHNE JORG DR; BOLL MICHAEL DR  
**Applicant:** BRAUN MELSUNGEN AG (DE)  
**Classification:**  
- **international:** A61K31/20; A61K31/23; A61K9/10  
- **european:** A61K31/20; A61K31/23; A61K35/60  
**Application number:** EP19880116623 19881007  
**Priority number(s):** DE19873734147 19871009

**Also published as:**

 FI884617 (A)  
 DE3734147 (A1)  
 EP0311091 (B1)

**Cited documents:**

 GB2033745  
 EP0115419  
 FR2542613

**Report a data error here**

**Abstract of EP0311091**

Conventional isotonic lipid emulsions containing essential omega -3-fatty acids, e.g. in the form of EPA, can be converted only inadequately in vivo into triunsaturated eicosanoids because they are preferentially consumed in energy metabolism, i.e. oxidised. Combination of omega -3-fatty acids or their physiologically acceptable esters with triglycerides of medium chain length results in the triglycerides of medium chain length being preferentially oxidised in the body, and the omega -3-fatty acids being protected from rapid oxidation so that increased amounts of them are available for the formation of triunsaturated eicosanoids. The combination also has a protective effect on the liver. Isotonic lipid emulsions containing omega -3-fatty acids are used, in particular, for parenteral administration in post-aggression metabolism associated with chronic inflammatory disorders and in neonatology and paediatrics.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

**BEST AVAILABLE COPY**



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets

Veröffentlichungsnummer:

0 311 091  
A1

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

Anmeldenummer: 88116623.5

Int. Cl. 4: A61K 31/20 , A61K 31/23 ,  
A61K 9/10

Anmeldetag: 07.10.88

Priorität: 09.10.87 DE 3734147

Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
12.04.89 Patentblatt 89/15

Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE

Anmelder: B. Braun Melsungen AG  
Carl-Braun Strasse  
D-3508 Melsungen(DE)

Erfinder: Nehne, Jörg, Dr.  
Weserring 7  
D-3502 Guxhagen(DE)  
Erfinder: Boll, Michael, Dr.  
Leipziger Strasse 6  
D-3508 Melsungen(DE)

Vertreter: von Kreisler, Alek, Dipl.-Chem. et al  
Patentanwälte Von Kreisler-Selting-Werner  
Deichmannhaus am Hauptbahnhof  
D-5000 Köln 1(DE)

Isotone omega-3-fettsäurenhaltige Fettemulsion und ihre Verwendung.

Übliche isotone Fettemulsionen, die essentielle  $\omega$ -3-Fettsäuren, z.B. in Form von EPA enthalten, können in vivo nur unzureichend zu dreifach ungesättigten Eikosanoiden umgesetzt werden, da sie im Körper bevorzugt im Energiestoffwechsel verbraucht, also oxidiert werden.

Durch die Kombination von  $\omega$ -3-Fettsäuren bzw. ihren physiologisch unbedenklichen Estern mit mittelkettigen Triglyzeriden werden im Organismus bevorzugt die mittelkettigen Triglyceride oxidiert und die  $\omega$ -3-Fettsäuren vor rascher Oxidation geschützt, so daß sie vermehrt zur Bildung von dreifach ungesättigten Eikosanoiden zur Verfügung stehen. Weiterhin wird durch die Kombination ein leberprotektiver Effekt erzielt.

Isotone  $\omega$ -3-fettsäurenhaltige Fettemulsionen, insbesondere zur parenteralen Applikation im Postaggressionsstoffwechsel bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen sowie in der Neonatologie und Pädiatrie.

EP 0 311 091 A1

Xerox Copy Centre



Entsprechend dem bis hierher dargelegten Stand des Wissens besteht also Bedarf an einer Fettemulsion zur parenteralen Verabreichung im Postaggressionsstoffwechsel, die weniger Vorstufen für 2-fach ungesättigte Eikosanoide bzw. 4-fach ungesättigte Leukotriene, in der Praxis also weniger Linolsäure enthält, statt dessen jedoch Präkursoren für 3-fach ungesättigte Eikosanoide bzw. 5-fach ungesättigte Leukotriene, also  $\omega$ -3-Fettsäuren, vorzugsweise Eikosapentaensäure. Ob die betreffende Fettemulsion nur  $\omega$ -3-Fettsäuren oder eine Kombination von  $\omega$ -3- und  $\omega$ -6-Fettsäuren enthält, richtet sich danach, ob die akute Beeinflussung von Prostaglandinwirkungen durch  $\omega$ -3-Fettsäuren oder ihre längerfristige Anwendung im Rahmen der parenteralen Ernährung im Vordergrund stehen. Im letzteren Fall ist auf  $\omega$ -6-Fettsäuren (Linolsäure) wegen ihrer Essentialität nicht zu verzichten.

Von diesem Wissensstand ausgehend wurde daher vorgeschlagen,  $\omega$ -3-Fettsäuren oder Ester derselben (z.B. ein gereinigtes Fischöl) allein oder zusammen mit einem Pflanzenöl zu emulgieren und in eine zur intravenösen Infusion oder sonstigen Anwendung geeignete Darreichungsform zu bringen.

Das US-Patent 4 526 902 beschreibt Mischungen aus 25 bis 75 Gew.-% Eikosapentaensäure und einer  $\omega$ -6-Fettsäure, die enteral als Bestandteil von Pharmazeutika oder fetthaltigen Nahrungsmitteln wie Butter oder ähnlichem verwendet werden.

In der EP 0 120 169 B1 sind synthetische Triglyzeride beschrieben, die am mittleren C des Glycerinmoleküls eine mehrfach ungesättigte Fettsäure, vorzugsweise Eikosapentaensäure, besitzen können. Die so erzeugten Glyzeride können als Nahrungsmittel, Nahrungsergänzungsmittel oder als Arzneimittel für die therapeutische Ernährung verwendet werden.

EP-A-0 145 873 offenbart eine Transfusionsemulsion zur Nahrungsergänzung, die einen Fettanteil von 5 bis 20 w/v-%, Rest Wasser, enthält, und worin die Fettphase zu 10 bis 50 w/v-% aus  $\alpha$ -Linolensäure oder ihrem Glycerin- bzw. Ethylester und zu 50 bis 90 w/v-% aus einem  $\omega$ -6-Fettsäure enthaltenden Pflanzenöl, wie Safloröl bzw. Sojaöl, besteht.

Die JP-OS Sho-58-230918 beschreibt eine Eikosapentaensäure enthaltende Emulsion zur oralen und nicht-oralen Verwendung. Diese enthält 1 bis 40 w/v-% Eikosapentaensäure bzw. vorzugsweise deren Methyl- oder Ethylester, 1 bis 30 w/v-% eines Pflanzenöls, vorzugsweise Sojaöl, 0,01 bis 30 w/v-%  $\alpha$ -Tocopherol, und als Emulgatoren 0,1 bis 5 w/v-% eines Phospholipids, vorzugsweise aus Eigelb und/oder Soja, sowie 0,1 bis 10 w/v-% eines nichtionischen synthetischen Emulgators.

Die DE-OS 34 09 793 offenbart eine flüssige Emulsion zur Transfusion mit antithrombotischer und antiarteriosklerotischer Wirkung, die zur Nahrungsergänzung dienen kann. Sie besteht neben Wasser zu 5 bis 20 w/v-% aus Eikosapentaensäure, Docosahexaensäure oder deren Ester und sie ist vorzugsweise ein gereinigtes Fischöl, wie Sardinienöl. Weiterhin enthält sie 1 bis 19 w/v-% eines Pflanzenöls, vorzugsweise Soja- und/oder Safloröl, sowie 1 bis 2 w/v-% eines Phospholipidemulgators, vorzugsweise aus Eigelb oder Soja. Dieser Fettemulsion kann als Antioxidans  $\alpha$ -Tocopherol zugefügt werden.

In den genannten Schriften blieb jedoch unberücksichtigt, daß unter diesen Bedingungen  $\omega$ -3-Fettsäuren zum größten Teil im Energiestoffwechsel verwertet, also oxidiert werden. Dadurch werden sie anderen Aufgaben wie z.B. der Bildung von Eikosanoiden entzogen. Die Oxidation von Triglyzeriden zur Energiegewinnung ist im Postaggressionsstoffwechsel - wie bereits erwähnt - sogar besonders hoch. Das Verfahren der direkten "ungeschützten" Zufuhr von  $\omega$ -3-fettsäurehaltigen Fettemulsionen ist also zumindest unökonomisch - wenn überhaupt durchführbar, da erhebliche Zweifel an dem jeweils oxidierten bzw. zur Bildung von Eikosanoiden verfügbaren Anteil bestehen müssen. Mit anderen Worten kann von einer unter diesen Bedingungen gegebenen Dosis keine definierte Wirkung erwartet werden, da sich nicht absehen läßt, zu welchem Prozentsatz die  $\omega$ -3-Fettsäuren anderweitig verwertet wurden.

Es ist demnach in Erweiterung der oben beschriebenen Aufgabe sicherzustellen, daß die zur Antagonisierung der unerwünschten Wirkungen 2-fach ungesättigter Eikosanoide und 4-fach ungesättigter Leukotriene verabreichten  $\omega$ -3-Fettsäuren auch möglichst vollständig für diesen Zweck zur Verfügung stehen.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß sich diese Aufgabe durch kombinierte Verabreichung von  $\omega$ -3-Fettsäuren bzw.  $\omega$ -3-fettsäurehaltigem Fischöl oder einer Fischölfraction mit mittelkettigen Triglyzeriden lösen läßt. Im einzelnen wurde nämlich gefunden, daß die Fettsäuren aus gereinigtem Fischöl, wenn dieses zusammen mit mittelkettigen Triglyzeriden zu einer Emulsion verarbeitet und intravenös infundiert wurde, langsamer aus dem Intravasalraum abströmten und in bedeutend geringerem Umfang oxidiert wurden als bei alleiniger Verabreichung einer Fischölemulsion.

Es wurde weiterhin gefunden, daß die kombinierte Verabreichung von  $\omega$ -3-fettsäurehaltigem, gereinigtem Fischöl bzw. einer Fischölfraction mit mittelkettigen Triglyzeriden einen vorteilhaften leberprotektiven Effekt besitzt. So zeigten Ratten nach längerfristiger Verabreichung einer Emulsion, die nur Triglyzeride aus Fischöl enthielt, ausgeprägte Fetteinlagerungen in der Leber, insbesondere auch in den Kupfferschen Sternzellen. Wurden die Ratten dagegen mit gleichen Menge von Triglyzeriden aus Fischöl, jedoch in gemeinsamer Emulsion mit mittelkettigen Triglyzeriden behandelt, fanden sich in der Leber praktisch keine

Wirkung ist also eine Folge der besonderen Kombination mit mittelkettigen Triglyzeriden.

Die Erfindung betrifft weiterhin eine Fettemulsion zur Verwendung im Postaggressionsstoffwechsel, insbesondere nach Operationen und multiplen Traumen, bei Verbrennungen, Infektionen, bei drohendem und manifestem Lungenversagen sowie zur Verwendung bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen. Die

erfindungsgemäße Fettemulsion kann ebenfalls in der Neonatologie und Pädiatrie verwendet werden.

Bei den Prozentangaben in der Beschreibung und in den Patentansprüchen handelt es sich jeweils, soweit nichts Anderes angegeben ist, um solche in Gramm pro 100 ml Lösung.

Die Erfindung wird durch folgende Beispiele erläutert.

10

#### Beispiel 1

28,3

66%

5,4

Eine Mischung aus 600 g hochgereinigtem Fischöl, 1400 g MCT, 2 g Cholesterinacetat, 120 g gereinigten Eiphsopholipiden und 2 g Natriumstearat wird mittels eines Ultra-Turrax fein dispergiert. Mit

15 Aqua ad iniectionem, das 250 g Glycerol und 5 mmol NaOH enthält, wird unter Rühren auf 10 l aufgefüllt. Diese grobe Voremulsion wird in einem Hochdruckhomogenisator bei einem Druck von 400 kg/cm<sup>2</sup> homogenisiert. Nach Abfüllung in Glasflaschen geeigneter Qualität wird nach allgemein bekannten Verfahren hitzesterilisiert. Die Teilchen der sterilen und pyrogenfreien Emulsion sind kleiner 1 µm.

20

#### Beispiel 2

36,7%

55%

Eine Mischung aus 400 g hochgereinigtem Fischöl, 600 g MCT, 90 g gereinigten Eiphsopholipiden und 4 g Natriumstearat wird, wie unter 1 beschrieben, dispergiert und nach Auffüllen mit Aqua ad iniectionem

25 (enthält 250 g Glycerol) auf 10 l homogenisiert, abgefüllt und sterilisiert.

Die Emulsionstropfen sind kleiner 1 µm.

#### Beispiel 3

30

Eine Mischung aus 300 g Eikosapentaensäureethylester, 700 g MCT, 60 g gereinigten Eiphsopholipiden, 500 mg α-Tocopherol und 2 g Natriumstearat wird, wie unter 1 beschrieben, dispergiert und nach Auffüllen mit Aqua ad iniectionem (enthält 125 g Glycerol) auf 5 l homogenisiert, abgefüllt und sterilisiert.

Die Emulsionstropfen sind kleiner 1 µm.

35

#### Beispiel 4

Eine Mischung aus 300 g gereinigtem Fischöl, 600 g gereinigtem Safforöl, 1100 g MCT, 120 g gereinigten Eiphsopholipiden, 200 mg α-Tocopherolacetat und 3,5 g Natriumstearat wird wie unter 1

40 beschrieben dispergiert. Nach Auffüllen auf 10 l mit Aqua ad iniectionem, das 250 g Glycerol enthält, wird homogenisiert, abgefüllt und sterilisiert. Die Emulsionstropfen sind kleiner als 1 µm.

#### Beispiel 5

33,9

50,8

15,2

Eine Mischung aus 200 g hochgereinigtem Fischöl, 300 g MCT und 90 g gereinigten Eiphsopholipiden wird wie unter 1 beschrieben dispergiert und nach Auffüllen mit Aqua ad iniectionem (enthält 250 g Glycerol) auf 10 l homogenisiert. Nach Einstellen des pH-Wertes mit NaOH auf pH 8,0 bis 8,5 wird abgefüllt und

50 sterilisiert. Es resultiert eine Emulsion mit Fetttropfchen kleiner als 1 µm.

#### Beispiel 6

30,9%

61,2%

Eine Mischung aus 250 g hochgereinigtem Fischöl, 500 g MCT und 60 g gereinigten Sojaphospholipiden wird wie unter 1 beschrieben dispergiert und nach Auffüllen mit Aqua ad iniectionem (enthält 125 g Glycerol) auf 5 l homogenisiert. Nach Einstellen des pH-Wertes mit NaOH auf pH 8,0 bis 8,5 wird abgefüllt und sterilisiert. Die Teilchen dieser Emulsion sind kleiner als 1 µm.

Gruppe I:	Fettemulsion (20 %) aus hochgereinigtem Fischöl
Gruppe II:	Fettemulsion (20 %) aus hochgereinigtem Fischöl und Safloröl im Verhältnis 10 : 10 (w : w)
Gruppe III:	Fettemulsion (20 %) entsprechend dem Herstellungsbeispiel 4 aus hochgereinigtem Fischöl, Safloröl und MCT-Öl im Verhältnis 3 : 3 : 14
Gruppe IV:	Fettemulsion (20 %) entsprechend dem Herstellungsbeispiel 1 aus hochgereinigtem Fischöl und MCT-Öl im Verhältnis 6 : 14 (w : w).

In allen Emulsionen war der Fischöl-Anteil durch  $^{14}\text{C}$ -Glycerol-tri-eikosapentaenoat radioaktiv markiert. Die Aktivität der Emulsionen lag bei etwa  $18 \mu\text{Ci/ml}$ ; die Fettdosis betrug  $2 \text{ ml/kg KG}$  ( $\approx 0,4 \text{ g/kg KG}$ ). Unmittelbar nach der Injektion wurden die Tiere in Stoffwechselkäfige eingebracht. Die Ausatemluft wurde über 6 h kontinuierlich abgesaugt und durch eine Oxifluor-Lösung geleitet. Die in der Oxifluor-Lösung als  $^{14}\text{CO}_2$  zurückgehaltene Radioaktivität wurde im Szintillationszähler bestimmt und betrug in Prozent der insgesamt verabreichten Dosis:

Gruppe I:	$42,8 \pm 3,7$
Gruppe II:	$40,3 \pm 3,9$
Gruppe III:	$17,2 \pm 2,1^*)$
Gruppe IV:	$16,5 \pm 2,3^*)$

\*:  $p < 0,001$  (vs. I und II)

Die Oxidation von Eikosapentaensäure war in den Gruppen III und IV, d.h. bei der Infusion von Emulsionen mit gleichzeitigem MCT-Anteil, signifikant geringer als in den Gruppen I und II, bei denen die Fischölemulsionen keine mittelkettigen Triglyceride enthielten.

### Anwendungsbeispiel 3

18 männliche Wistar-Ratten (300 - 350 g) wurden in 3 Gruppen zu je 6 Tieren eingeteilt und an 20 aufeinanderfolgenden Tagen mit jeweils einer der nachstehenden Fettemulsionen infundiert.

Gruppe I:	Fettemulsion (20 %) aus hochgereinigtem Fischöl Dosis: $22,5 \text{ ml/kg KG}$ und Tag entspr. $4,5 \text{ g Fett/kg KG}$ und Tag.
Gruppe II:	Fettemulsion (20 %) aus hochgereinigtem Fischöl und Safloröl im Verhältnis 1 : 1 (w : w) Dosis $45 \text{ ml/kg KG}$ und Tag entspr. $9 \text{ g Fett/kg KG}$ und Tag.
Gruppe III:	Fettemulsion (20 %) aus hochgereinigtem Fischöl und MCT-Öl im Verhältnis 1 : 1 (w : w) Dosis $45 \text{ ml/kg KG}$ und Tag entspr. $9 \text{ g Fett/kg KG}$ und Tag.

Die Infusionen erfolgten über einen in der Nackengegend der Tiere subkutan implantierten Katheter mit Einspritzport. Der Katheter wurde subkutan bis zur Vena jugularis geführt, in diese implantiert und bis in die Vena cava vorgeschoben. Die tägliche Infusionsdauer betrug 7 Stunden. 36 Stunden nach der letzten Infusion wurden die Tiere in Ethernarkose durch Entbluten getötet und unmittelbar danach sezziert. Herz, Leber, Milz, Thymus, Nieren und Hoden wurden entnommen, gewogen und histologisch untersucht.

In der Gruppe II verstarb ein Tier am 16. Infusionstag; in den Gruppen I und III überlebten alle Tiere.

In der nachstehenden Übersicht beziehen sich die Werte auf die Organgewichte in g (Mittelwerte  $\pm$  SD bezogen auf ein Körpergewicht von 1000 g).

11. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur Verwendung bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen, insbesondere bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen.
12. Fettemulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur Verwendung in der Neonatologie und Pädiatrie.
13. Verfahren zur Herstellung einer isotonen Fettemulsion zur parenteralen Applikation, enthaltend  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA) oder ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, dadurch gekennzeichnet, daß man diese Fettemulsion, welche
  - diese  $\omega$ -3-Fettsäuren oder Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen,
  - mittelkettige Triglyceride (MCT),
  - mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,gegebenenfalls mindestens ein  $\omega$ -6-Fettsäuren lieferndes Pflanzenöl,
  - $\alpha$ -Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche  $\alpha$ -Tocopherolester, sowie
  - übliche Zusatz- und Hilfsstoffeenthält, wobei
  - das Verhältnis von EPA oder ihren physiologisch unbedenklichen Estern zu MCT zwischen 1 : 9 und 3 : 5 liegt,
  - der gesamte Fettgehalt zwischen 5 und 30 % liegt,
  - der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 12 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt und
  - der Gehalt an  $\omega$ -6-Fettsäuren liefernden Pflanzenölen zwischen 0 und 30 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt,durch Vermischen der Bestandteile erhält.
14. Verfahren gemäß Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß man das dort verwendete Fischöl durch Verarbeitung von Kaltwasserfischen, beispielsweise von Makrele, Sardine, Hering oder Lachs erhält.
15. Verfahren gemäß Anspruch 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, daß als Fischöl ein hochgereinigtes Fischölkonzentrat mit einem Gehalt an EPA von 20 bis 40 %, vorzugsweise mindestens 26 % (bezogen auf die Fettsäuremethylester des Fischölkonzentrats) eingesetzt wird.
16. Verfahren gemäß Ansprüchen 13 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß als mittelkettige Triglyceride solche Stoffe eingesetzt werden, die zu mindestens 90 % aus Glyzeriden der Caprylsäure (C<sub>8</sub>) und Caprinsäure (C<sub>10</sub>) bestehen.
17. Verfahren gemäß Ansprüchen 13 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß als Emulgator ein Phospholipid tierischen oder pflanzlichen Ursprungs, insbesondere aus Hühnereigelb oder Sojabohne, eingesetzt wird.
18. Verfahren gemäß Ansprüchen 13 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß als weitere Emulgierhilfsstoffe Natriumsalze langkettiger Fettsäuren (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) und/oder Cholesterin oder Cholesterinester (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) eingesetzt werden.
19. Verfahren gemäß Ansprüchen 13 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß man als  $\omega$ -6-Fettsäuren lieferndes Pflanzenöl Saflor- und/oder Sojaöl verwendet.
20. Verfahren gemäß Ansprüchen 13 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß man 10 bis 100 mg  $\alpha$ -Tocopherol oder  $\alpha$ -Tocopherolester, bezogen auf 100 g Fett, verwendet.
21. Verfahren gemäß Ansprüchen 13 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß man die Fettemulsion auf einen pH-Wert im Bereich von 6 bis 9 einstellt.
22. Verfahren gemäß Ansprüchen 13 bis 21 zur Verwendung der hierbei erhaltenen Fettemulsion im Postaggressionsstoffwechsel, insbesondere nach Operationen und multiplen Traumen, bei Verbrennungen, Infektionen, bei drohendem und manifestem Lungenversagen.
23. Verfahren gemäß Ansprüchen 13 bis 21 zur Verwendung der hierbei erhaltenen Fettemulsion bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen, insbesondere bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen.
24. Verfahren gemäß Ansprüchen 13 bis 21 zur Verwendung der hierbei erhaltenen Fettemulsion in der Neonatologie und Pädiatrie.

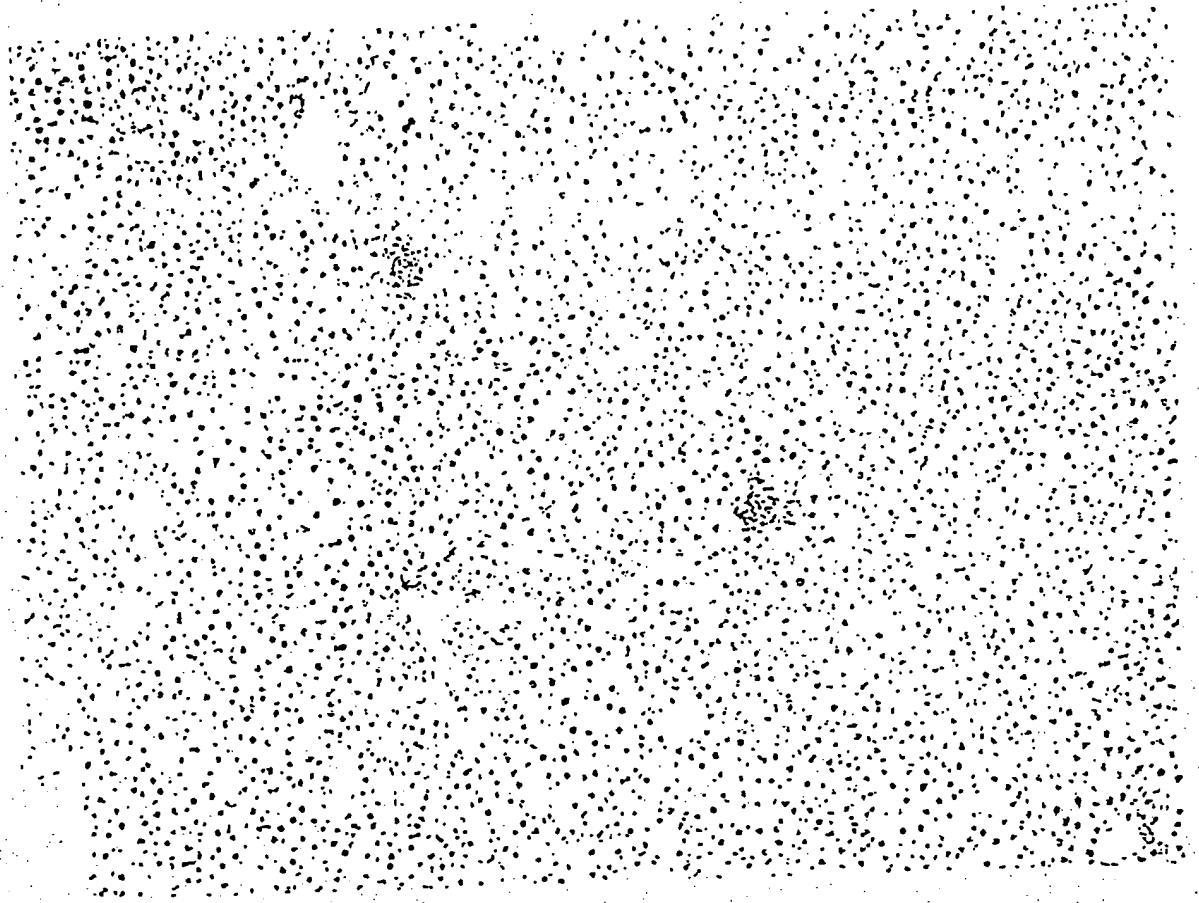


Abb. 2 a

Gruppe I. Geringe Belastung.

In der Fettfärbung in den Kupffer'schen Sternzellen Neutralfetteinlagerungen  
(Pfeile).

---

**POOR QUALITY**



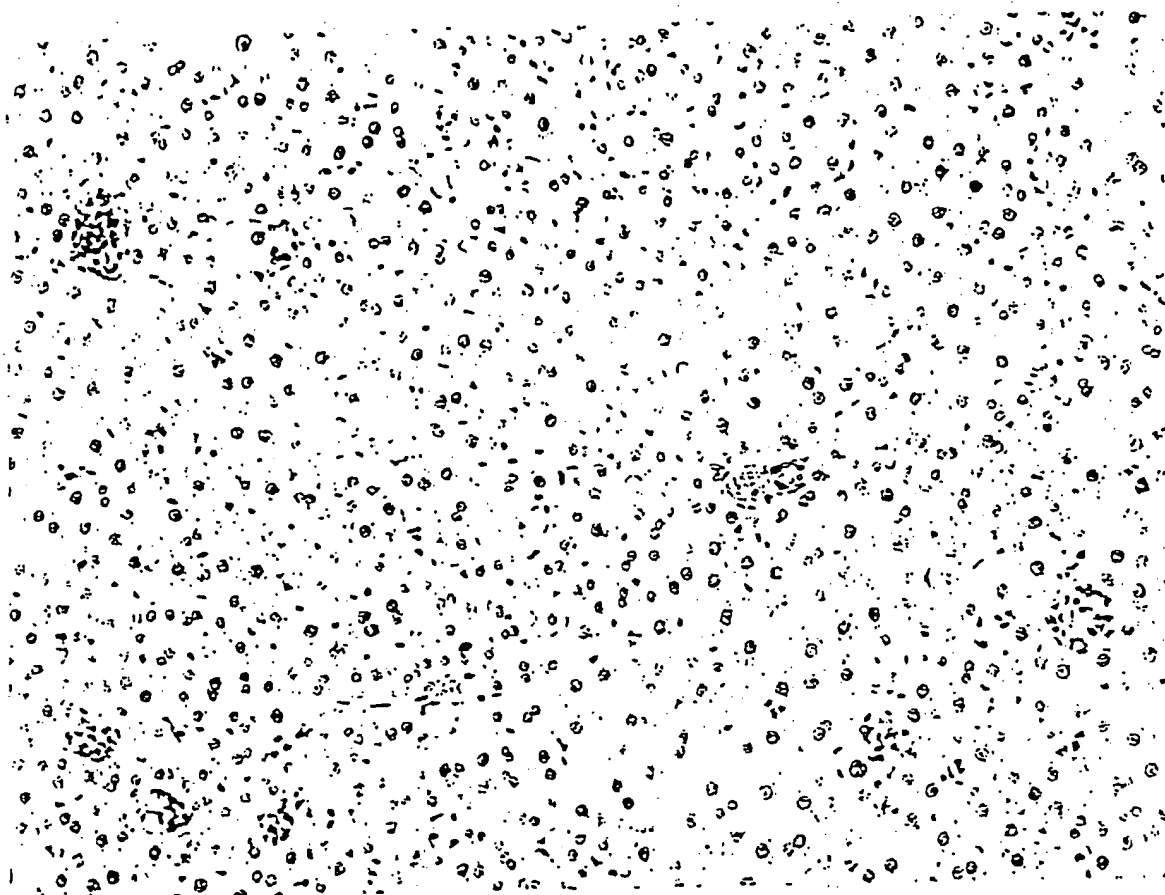


Abb. 2 b

Gruppe II. Starke Belastung. Bildung von reichlich Sternzellknötchen. In der Fettfärbung reichlich Fetteinlagerungen in den Kupffer'schen Sternzellen (Pfeile).

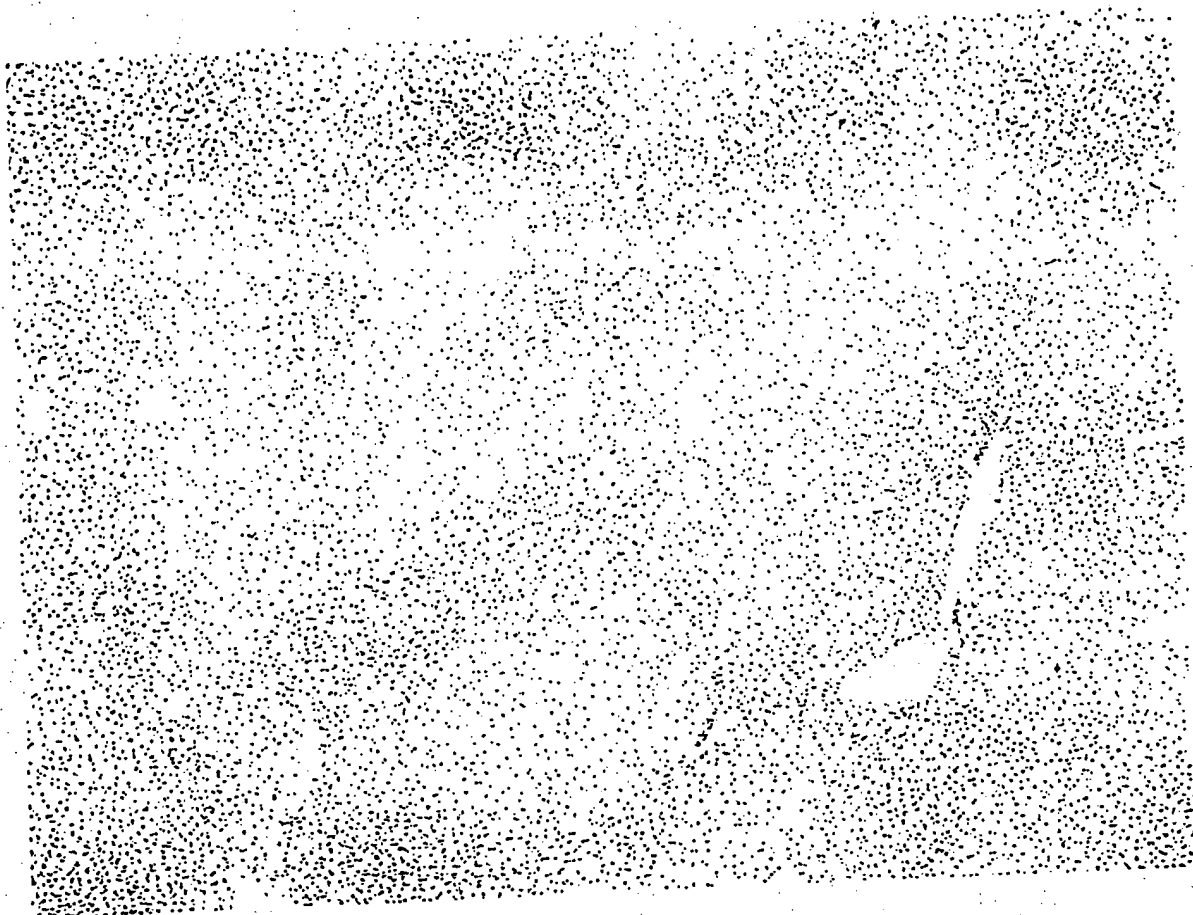


Abb. 2 c  
Gruppe III. Normaler Befund. Keine Sternzellknötchen. In der Fettfärbung in  
den Sternzellen keine Fettspeicherung nachzuweisen.

**POOR QUALITY**



EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.4)
X	GB-A-2 033 745 (WELLCOME) * Ansprüche 1-4,10-12; Seite 3, Zeilen 48-52; Seite 4, Zeilen 28-30,56-60; Seite 5, Zeilen 9-11 *	1-3,5-8 ,13-15, 17,19, 20	A 61 K 31/20 A 61 K 31/23 A 61 K 9/10
X	EP-A-0 115 419 (EFAMOL) * Ansprüche; Seite 8, Zeilen 23-27; Seite 9, Zeilen 14-17; Seite 10, Zeilen 13-15,23-25; Seite 11; Beispiele *	1-3,5-8 ,10-15, 19,20, 22-24	
D,X	FR-A-2 542 613 (TERUMO) * Ansprüche; Seite 2, Zeilen 14-34; Seite 3, Zeilen 21-27; Seite 4, Zeilen 4-8,22-24 *	1-3,5-8 ,13-15, 17-20	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.4)
			A 61 K
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 13-01-1989	Prüfer SCARPONI U.
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EPO FORM 1503 03.82 (P0403)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**